



应用与环境生物学报

Chinese Journal of Applied and Environmental Biology

ISSN 1006-687X, CN 51-1482/Q

《应用与环境生物学报》网络首发论文

题目: 铅胁迫对双孢蘑菇积累铅及抗氧化酶活性的影响
作者: 胡泳华, 周媛, 严重玲, 刘俊敏, 张维友, 王勤
DOI: 10.19675/j.cnki.1006-687x.2019.05041
收稿日期: 2019-05-26
网络首发日期: 2019-08-01
引用格式: 胡泳华, 周媛, 严重玲, 刘俊敏, 张维友, 王勤. 铅胁迫对双孢蘑菇积累铅及抗氧化酶活性的影响. 应用与环境生物学报.
<https://doi.org/10.19675/j.cnki.1006-687x.2019.05041>



网络首发: 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式 (包括网络呈现版式) 排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

出版确认: 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊 (光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊 (网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊 (网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物 (ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

铅胁迫对双孢蘑菇积累铅及抗氧化酶活性的影响

胡泳华^{1,2} 周媛² 严重玲² 刘俊敏² 张维友² 王勤^{2**}

¹ 闽南师范大学生物科学与技术学院 福建 漳州 363000

² 滨海湿地生态系统教育部重点实验室 厦门大学生命科学院 福建 厦门 361102

摘 要 铅(Pb)是环境中最普遍的重金属污染物之一,不仅直接毒害土壤生物,破坏生态结构,还可以通过食物链迁移转化,危害人体健康,因此Pb污染的治理迫在眉睫。大型真菌具有强的金属富集能力及较高的相对年生物量,因此在对Pb污染的修复中有一定优势。本文以双孢蘑菇菌丝为研究对象,采用马铃薯葡萄糖琼脂培养的方法,研究不同浓度Pb胁迫对双孢蘑菇菌丝体的生长状况、形态以及机体内抗氧化酶系统的影响。结果表明,在实验浓度下Pb对双孢蘑菇菌丝体的生长率无显著性影响,且菌丝体中Pb含量随着培养基中Pb浓度的增加而升高,达到10.40 μg/g。扫描电镜和透射电镜结果显示,Pb胁迫下菌丝体的细胞结构受到一定破坏,细胞膜透性增加。X射线能谱分析观察到细胞中的黑色颗粒为铅,表明Pb在细胞内的富集。菌丝体中丙二醛含量随Pb浓度的增加而增加,超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)和抗坏血酸过氧化物酶(APX)等抗氧化酶活性随着Pb浓度的增加有不同程度的反应。在酶活力达到最大时,相比对照组分别增加了56.45%、61.36%、13.08%和10.59%,说明双孢蘑菇通过调节自身抗氧化酶系统适应Pb胁迫环境,据此在Pb污染的生物修复中具有应用潜力。

关键词 铅胁迫; 双孢蘑菇; 积累; 抗氧化酶

CLC X53

Effect of lead stress on lead accumulation ability and antioxidant enzyme activities of the mushroom *Agaricus bisporus*

HU Yonghua^{1,2}, ZHOU Yuan², YAN Chongling², LIU Junmin², ZHANG Weiyu² & WANG Qin^{2**}

¹ School of Biological Science and Biotechnology, Minnan Normal University, Zhangzhou, Fujian 363000, China;

² Key Laboratory of the Ministry of Education for Coastal and Wetland Ecosystems, School of Life Sciences, Xiamen University, Xiamen 361102, China

Abstract Lead (Pb) is one of the most common heavy metal pollutants in the environment. It not only directly poisons soil organisms and destroys the ecological structure, but also can migrate and transform through the food chain and harm human health. Therefore, the treatment of Pb pollution is extremely urgent. Due to its strong metal enrichment ability and high relative annual biomass, macrofungi have certain advantages in the remediation of heavy metal pollution. In the present study, the mycelium of *Agaricus bisporus* was exposed to different concentrations of Pb to evaluate its growth, morphology and the activity of antioxidant enzymes. The results showed that in the experimental concentrations of Pb, the mycelium growth had no significant effect, and the accumulation of Pb was found to increase in a concentration-dependent manner reached to 10.40 μg/g. The results of scanning electron microscopy and transmission electron microscope showed that the cell structure of mycelium was damaged and the membrane permeability was increased under Pb treatment. The black particles in the cells were found to be lead by X-ray energy dispersive microanalysis (EDX) which indicated that Pb was accumulated in the cell. Malondialdehyde contents increased with increasing Pb concentration. The activities of antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POD), catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) have different degrees of response with the increase of Pb concentration. When the enzyme activity reached its maximum, it increased by 56.45%, 61.36%, 13.08% and 10.59%, respectively, compared with the control. This study signifies that *A. bisporus* can adjust its own antioxidant enzyme system to adapt to Pb stress, suggesting that *A. bisporus* has application potential for the remediation of Pb.

Keywords lead stress; *Agaricus bisporus*; accumulation; antioxidant enzymes

随着工农业生产中产生的废水、废渣和废弃物的排放,这些污染引发的生态功能破坏和农产品安全等问题日益受到各界的高度关注。铅(Pb)是环境中最普遍的重金属污染物之一,不仅直接毒害土壤生物和植物,破坏生态结构,还通过食物链迁移转化,危害人体健康,影响全球生态系统的平衡^[1, 2],因此Pb污染土壤治理迫在眉睫,修复研究越来越受重视。Pb主要以化合物的形式存在,其性质稳定、难以被降解。传统的物理及化学修复技术的最大弊端是污染物去除不彻底,导致二次污染发生,从而带来新的环境健康风险危害。生物修复技术利用生物有机体将污染物分解并最终去除,其所具有的安全性、非破坏性和经济性优点,是目前最具前途的修复技术之一^[3, 4]。生物修复分为植物修复、微生物修复和动物修复三种类型。

收稿日期 Received: 2019-05-26 接受日期 Accepted: 2019-07-22

*福建省教育厅中青年教师教育科研项目(JAT170364)、国家自然科学基金项目(31530008和318704832)资助 Supported by the Young and Middle-Aged Teachers Education Scientific Research Project of Fujian Province (JAT170364), the National Natural Science Foundation of China (31530008 and 318704832)

**通讯作者 Corresponding author (E-mail: qwang@xmu.edu.cn)

但是目前超富集植物种类数量偏少、已知的超富集植物生物量偏低以及富集过程中富集效果不明显都限制了该技术的应用。与植物相比,大型真菌除了具有更强的重金属富集能力外,其人工驯化栽培技术相对成熟,菌丝体容易获得,子实体有较高的相对年生物量。此外,进行生物修复后子实体后处理相对容易而经济^[5, 6],有研究发现许多大型真菌都具有超过绿色植物的富集重金属能力^[7]。冯欢等研究发现草地马勃(*Lycoperdon pratense* Pers.)和点柄粘盖牛肝菌[*Suillus granulatus* (L.) Roussel]两种外生菌根真菌对 Pb 都具有一定的耐受力 and 富集能力,其对 Pb 耐受的机制可能通过提高抗氧化酶的活性以清除 Pb 胁迫产生的氧来实现^[8]。

双孢蘑菇(*Agaricus bisporus* (Lange) Sing),是世界上栽培面积最多的一种大型真菌,有研究报道其可从水溶液中去除了 Pb 离子^[9]、铜(Cu)离子^[10]和镉(Cd)离子^[11]等;双孢蘑菇对重金属污染土壤具有生物修复作用及对杀虫剂具有生物富集作用^[12]。采用双孢蘑菇和糙皮侧耳两种大型真菌对金属-有机物混合污染的生物修复中,双孢蘑菇对 Pb 和 Cd 有很强的吸附能力^[13]。本研究以双孢蘑菇为研究对象,探讨在 Pb 胁迫下双孢蘑菇菌丝体生长率、细胞结构变化、细胞中铅的累积、电解质渗漏率、丙二醛含量以及系列抗氧化酶的变化,以期从理论上为大型真菌修复重金属污染环境的可能性提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:双孢蘑菇(AS2796),由福建省漳州市九湖食用菌研究所提供。

培养基:马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基:土豆 200 g,葡萄糖 20 g,琼脂 20 g,水 1000 mL。

固定液:0.1 mol/L pH7.6 磷酸缓冲液配制的 2.5%戊二醛(2%多聚甲醛+0.05% CaCl₂)。

试剂:硝酸铅、葡萄糖、琼脂粉等均购于国药集团化学试剂有限公司。超氧化物歧化酶和过氧化氢酶测定试剂盒购于南京建成生物工程研究所。

本实验使用的仪器:电感耦合等离子体(ICP-MS, PE Elan DRC-e, 美国 PE 公司),扫描电镜(JSM-6390LV, 日本电子株式会社),透射电镜(JME-2100HC, 日本电子株式会社),X 射线能谱(EDX, XMV ATC-ZZRD-0206, FEI 中国)。

1.2 重金属处理培养

经过预实验,PDA 培养基中加入 10 mg/L 的 PbNO₃ 溶液,不会影响菌丝体的正常生长,本实验设置培养基中 Pb 浓度分别为 0、0.25、0.50、0.75 和 1.00 mg/L,待培养皿中培养基冷却凝固后,将 6 mm² 长势良好的双孢蘑菇菌丝块倒置接种于培养基正中心,培养皿置于 24 °C 恒温培养箱中静置培养 14 d,以 Pb 浓度为 0 mg/L 作为对照组,重复 3 次。

1.3 测定指标

1.3.1 菌丝生长速率测定 在 90 mm 培养皿中接种培养之后,待菌丝长过菌块肩部时开始记录。每隔 5 d 用记号笔在菌丝生长前端画线,并用游标卡尺测量菌丝生长前端距中心菌块的距离,计算日平均生长速率(cm/d)^[14]。

1.3.2 重金属含量检测 培养 15 d 后将长势良好的菌丝刮取下来于表面皿中,于烘箱中 80 °C 烘干菌丝后,置于研钵中研磨成粉末状后,准确称取 0.2 g 粉末状菌丝于微波消解仪罐内,加入 8 mL 30%过氧化氢溶液,进行微波消解。样品消解后,将液体转移至容量瓶中定容至 50 mL,加热除酸后用 0.22 μm 滤膜过滤,利用 ICP-MS 测定样品中 Pb 的含量^[15]。

1.3.3 扫描电镜观察菌丝生长状况 将无菌、边长 5 mm 左右的盖玻片斜插入(斜角 45°为宜)铅浓度为 1 mg/L 的接有双孢蘑菇菌种的培养基上,24 °C 下静置培养 14 d 后,将盖玻片去除,菌丝经固定、脱水、冷冻干燥、喷金等步骤制片,扫描电镜观察,拍照^[16]。

1.3.4 透射电镜结合 X 射线能谱观测菌丝中铅的富集情况 收集在 Pb 浓度为 1 mg/L 条件下生长 14 d 的饱满菌丝,切成 1 mm³ 大小后放在预冷的固定液中,经前固定、清洗、后固定、脱水渗透、包埋、切片、染色后用透射电镜进行观察,拍照^[17]。然后采用 X 射线能谱分析(X-ray Energy Dispersive Microanalysis, EDX),对样品细胞内容物进行元素分析^[18]。

1.3.5 丙二醛含量及电解质渗漏率的测定 丙二醛(MDA)含量采用硫代巴比妥酸法测定^[19]。

接种培养 15 d 后,用 5 mm 打孔器对生长良好的菌丝体打孔,每个浓度分别获得 30 个直径为 5 mm 的菌丝块。将菌丝块装入含有 20 mL 去离子水作为浸提液的烧杯中,25 °C 恒温放置 1 h,搅拌均匀后用电导率仪测定浸提液的电导率 EC₁,然后将烧杯放入沸水浴中浸提 10 min,取出自然冷却后补足去离子水到 20 mL,测电导率 EC₂。相对渗透率=(EC₂/EC₁)×100%^[20],设去离子水的 EC 为 1。

1.3.6 相关抗氧化酶活性的测定 酶液制备:小心刮取长势良好的双孢蘑菇菌丝,以生理盐水为提取剂,按质量:体积=1g 菌丝:9 mL 生理盐水的比例称取菌丝质量,在冰水浴中研磨制备酶液的匀浆液,而后在 4 °C,3000 r/min 条件下离心 10 min,取上清液待测。

超氧化物歧化酶(SOD)酶活力的测定采用氮蓝四唑光还原法,过氧化物酶(POD)酶活力的测定采用愈创木酚法,过氧化氢酶(CAT)酶活力的测定采用过氧化氢分解法,抗坏血酸过氧化物酶(APX)酶活力的测定采用抗坏血酸氧化法^[21, 22]。

1.4 数据处理

数据采用 Microsoft Excel 2010 软件进行处理,用 SPSS 18.0 进行单因素方差分析。

2 结果和讨论

2.1 培养基中 Pb 对双孢蘑菇菌丝日均生长速率及 Pb 含量的影响

不同浓度铅胁迫下双孢蘑菇菌丝生长情况及 Pb 含量如图 1 所示：从图 1A 中可以得出在培养基中 Pb 浓度为 0~1 mg/L 范围内，菌丝体培养 14 d 后，Pb 胁迫组和对照组的菌丝生长旺盛，菌丝状态良好，没有出现枯黄现象，菌丝长满 90 mm 的培养皿。通过测定菌丝的日均生长速率进一步确认 Pb 胁迫对菌丝生长的影响，结果如图 1B 所示，在培养基中 Pb 浓度为 0~1 mg/L 范围内，菌丝的日均生长速率分别为 0.16, 0.17, 0.19, 0.17 和 0.18 cm/d，无显著性差异，说明 Pb 对双孢蘑菇的菌丝生长率没有显著性影响，可以进行后续的实验研究；收集 Pb 胁迫后的菌丝体测定其中的 Pb 含量，结果如图 1C 所示，随着培养基中 Pb 浓度的升高，菌丝中 Pb 含量也逐渐升高，从 0.41 $\mu\text{g/g}$ 升高到 10.40 $\mu\text{g/g}$ ，呈现浓度效应并且存在差异显著性 ($P<0.05$)。由此可以得出菌丝体可以富集培养基中的 Pb。

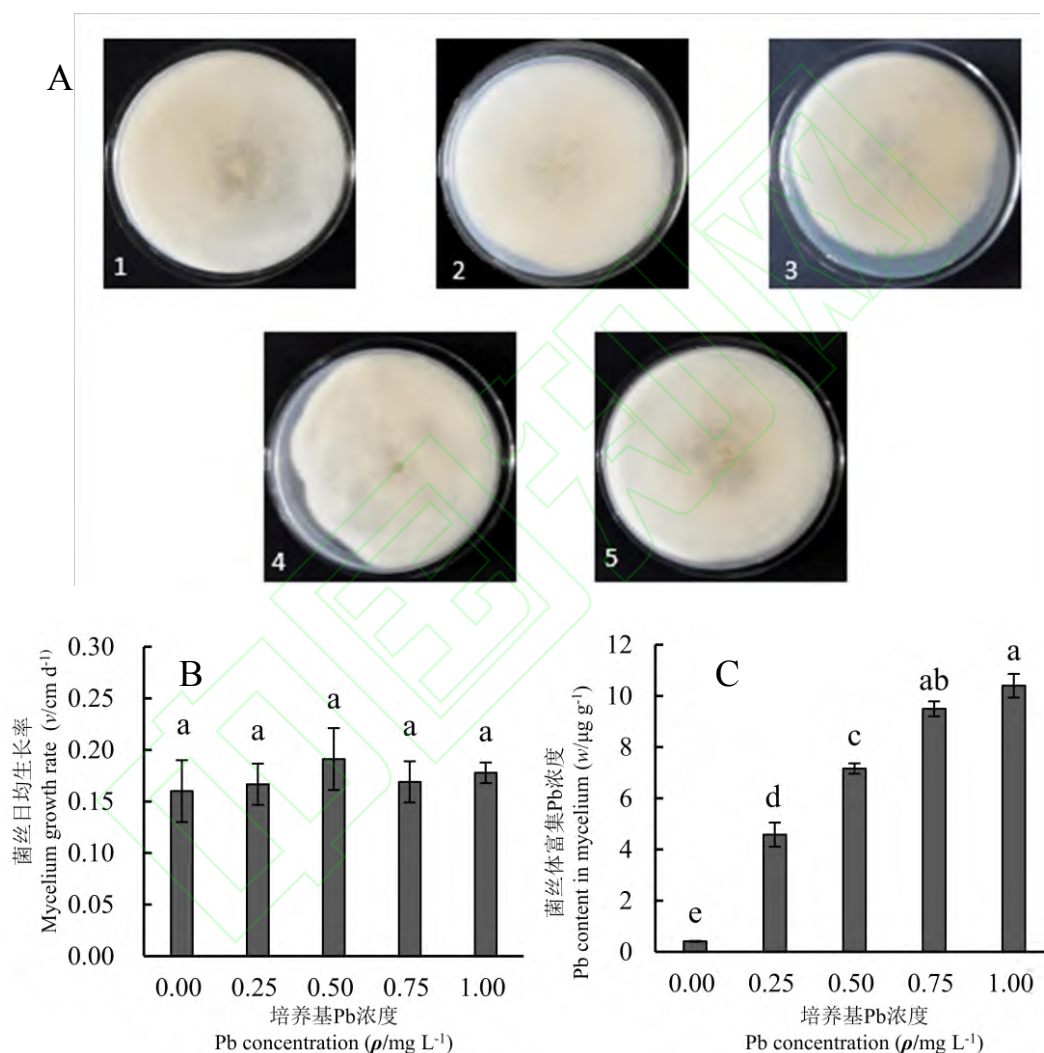


图 1 铅对双孢蘑菇菌丝生长 (A)、菌丝日均生长率 (B) 及 Pb 含量 (C) 的影响。其中图 A 中 1~5 分别表示 Pb 浓度为 0、0.25、0.50、0.75、1.00 mg/L；图 B 和 C 中小写字母不同表示有显著性差异 ($P<0.05$)。

Fig. 1 The effects of Pb on mycelia growth (A), growth rate (B) and Pb content (C) in *A. bisporus*. 1~5 in Fig 1A represented the concentration of Pb which are 0, 0.25, 0.50, 0.75 and 1.00 mg/L. The small letter in fig 1B and 1C indicated there were significant differences ($P<0.05$).

2.2 扫描电镜观察 Pb 胁迫下双孢蘑菇菌丝生长状况

通过扫描电镜观察 Pb 胁迫下双孢蘑菇菌丝生长状况，结果如图 2 所示。从图 2A 中观察到对照组的

菌丝间连接致密，呈现密集的网状分布，图 2B 中对照组菌丝粗壮，内部有褶皱。从图 2C 和 2D 观察到 Pb 处理组的菌丝排列较对照组规则，菌丝粗细均匀，菌丝内部光滑，说明 Pb 胁迫下菌丝的生长率虽然不受影响，但是其对菌丝的结构有一些影响。杨春香采用扫描电镜研究了不同浓度 Cd 对姬松茸菌丝生长的影响，随着 Cd 浓度升高，菌丝细胞壁变得粗糙，受到破坏，内容物外泄，甚至菌丝自溶，1.0 mg/L Cd 对姬松茸菌丝产生较明显的毒害作用^[23]。因此在重金属的胁迫下菌丝的内部结构发生变化，重金属对菌丝有一定的毒害作用。

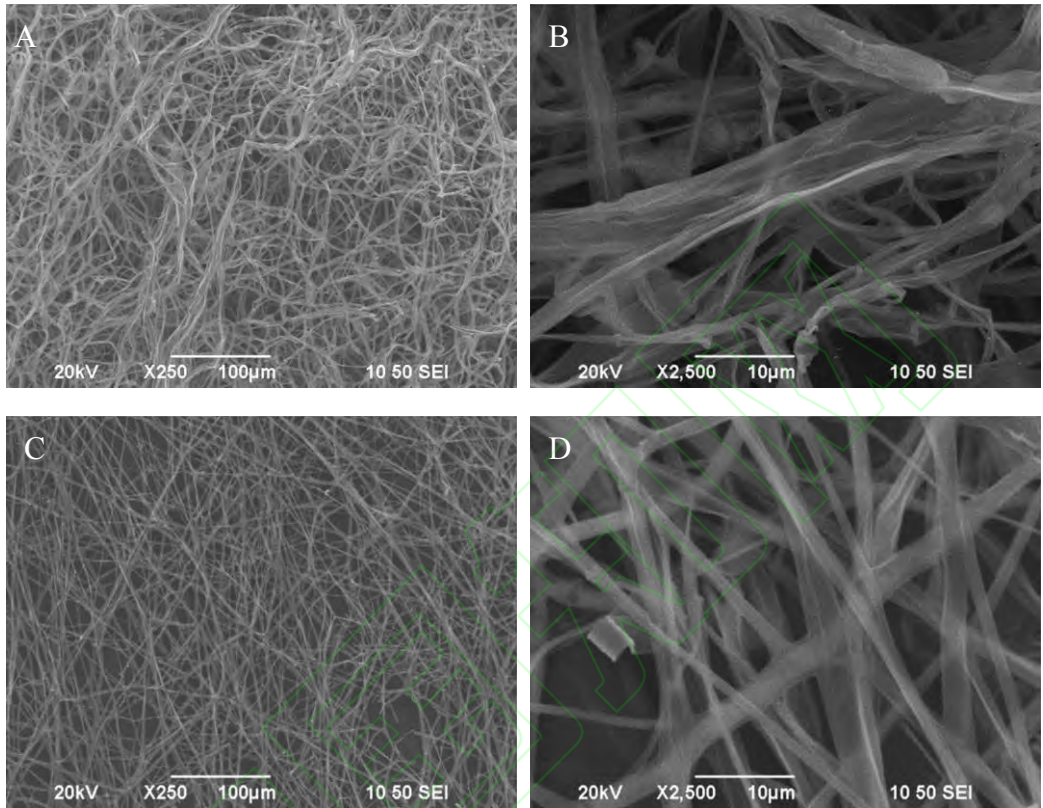


图 2 Pb 胁迫下双孢蘑菇菌丝的扫描电镜图。其中 A、B 为对照组，C、D 为 1.00 mg/L Pb 处理组。

Fig. 2 Scanning electron microscope of *A. bisporus* under the treatment of Pb. A and B were control samples, C and D were treated by 1.00 mg/L Pb.

2.3 透射电镜结合 X 射线能谱分析菌丝中 Pb 的富集情况

采用透射电镜观察在 Pb 胁迫条件下菌丝细胞结构状态，结果如图 3A、B 所示。由图可知，对照组中细胞结构完整，内部细胞器清晰，而在 Pb 胁迫下，细胞内部变得空洞，并且有明显的黑色颗粒堆积。黄敏敏等采用透射电镜观察 Cd 对姬松茸菌丝细胞超微结构，Cd 浓度在 0~7 mg/L 范围内，菌丝体细胞壁有轻微损伤，细胞内液泡变大，内含物减少，随着 Cd 浓度增加，细胞壁、膜断裂，线粒体减少，当 Cd 浓度大于 42 mg/L 时，细胞完全自溶^[24]。这与我们的实验结果类似，在 1 mg/L Pb 作用下，双孢蘑菇菌丝体细胞内含物减少，细胞壁结构模糊、断裂。而我们进一步采用 X 射线能谱对细胞中黑色颗粒进行元素分析，结果如图 3C、D 所示。由图可知，在 Pb 胁迫下双孢蘑菇菌丝细胞中黑色颗粒为 Pb，从而得出 Pb 可以被富集在菌丝细胞内部。

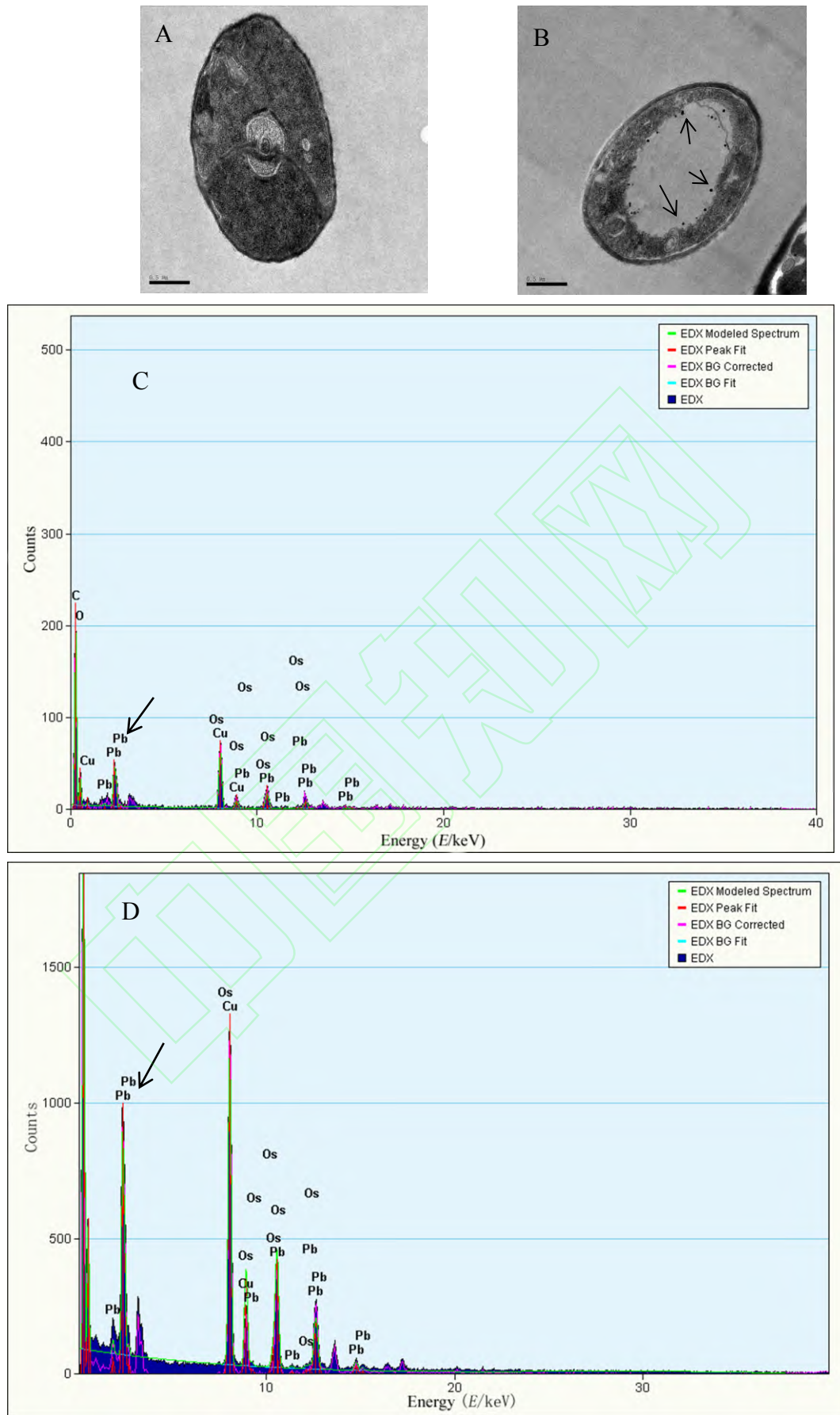


图 3 Pb 胁迫下双孢蘑菇菌丝透射电镜图 (A、B, $\times 5000$) 和 X 射线能谱分析结果图 (C、D)。其中 A、C 对照组, B、D 为 1 mg/L Pb 处理组。

Fig. 3 Transmission electron micrograph (A, B) and X-ray energy dispersive microanalysis (C, D) of *A. bisporus* under the treatment of Pb. A and B were control samples, C and D were treated by 1.00 mg/L Pb.

2.4 Pb 胁迫对双孢蘑菇菌丝中 MDA 含量及电解质渗漏率的影响

机体在逆境胁迫下会产生自由基,从而攻击细胞膜中的脂肪酸,引起脂质过氧化,产生脂质过氧化物如 MDA 等,因此组织内 MDA 含量的高低反应了膜脂过氧化水平^[25],可以以此判断菌丝体细胞受损伤的程度。从图 4A 的结果可知,MDA 含量随着 Pb 浓度的增加而呈增加的趋势,与对照组相比存在显著性差异 ($P<0.05$),可推测在 Pb 胁迫下菌丝体内的自由基攻击细胞膜,引起脂质过氧化,产生脂质过氧化物。韩航等研究了类芦在 Pb 胁迫下其叶片中的 MDA 含量随着 Pb 浓度升高而迅速增加^[26],金丝草在 Pb 胁迫下其叶片和根系中 MDA 含量迅速增加,植物在 Pb 胁迫下体内会产生多种活性氧,造成膜脂过氧化毒害^[27],这与我们的结果相一致,说明在大型真菌中 Pb 胁迫也会造成膜脂过氧化。而当细胞膜的结构受到破坏时,细胞膜透性会增加,细胞内电解质发生大量的外渗,从而引起电解质渗漏率的增加,所以可以用相对渗漏率的大小来表示细胞膜结构的完整性。从图 4B 的结果可知,在不同浓度 Pb 胁迫下,双孢蘑菇菌丝的相对渗透率相比于对照组有显著性差异,说明细胞膜完整性受到一定的破坏,这与扫描电镜的结果相一致。罗弦等研究了 Pb 胁迫下马缨丹的生理响应,结果发现 Pb 浓度高于 600 mg/kg 时打破了其体内活性氧产生与清除的动态平衡,MDA 含量和电解质渗漏率显著升高,引起严重的膜脂过氧化伤害^[28]。

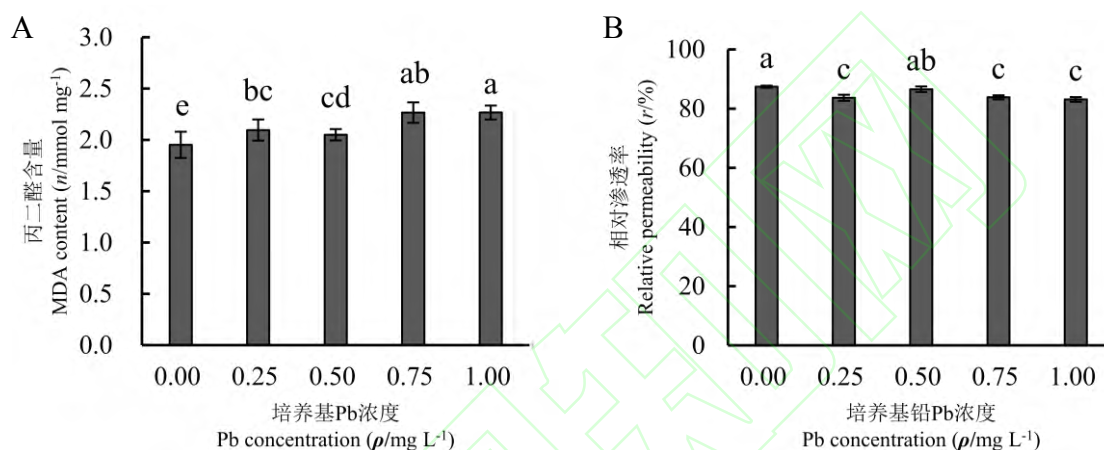


图 4 Pb 胁迫对双孢蘑菇菌丝中 MDA 含量 (A) 和电解质渗漏率 (B) 的影响。同一项中不同字母表示在 $P<0.05$ 条件下差异显著。

Fig. 4 MDA content (A) and relative permeability (B) of *A. bisporus* under the treatment of Pb. Different letters in the same category indicate significant difference at $P<0.05$.

2.5 Pb 胁迫对双孢蘑菇菌丝中相关抗氧化酶活性的影响

过量的 Pb 积累会产生大量的自由基,诱导活性氧的积累^[25],引起新陈代谢紊乱,而菌丝体内的抗氧化酶 (SOD、POD、CAT 和 APX) 能够有效消除过量的活性氧自由基,维持自由基在机体内的动态平衡,保护细胞免受活性氧的损伤,从而保护菌丝体的膜系统,因此抗氧化酶活性的高低与机体的抗逆性相关^[16]。图 5A 的结果表明 SOD 酶活性随着 Pb 浓度的增加呈现先增加后减少的趋势,当铅浓度为 0.75 mg/L 时,SOD 酶活力相比对照组增加了 56.45%,与对照组之间存在显著性差异 ($P<0.05$)。POD 酶活力随着 Pb 浓度增加呈现先升高后减少再升高的趋势,在 Pb 浓度为 1.00 mg/L 时达到最大,相比对照组增加了 61.36%,存在显著性差异 ($P<0.05$),如图 5B 所示。CAT 酶活力随着 Pb 浓度增加呈现先升高后减少再升高的趋势,在 Pb 浓度为 0.25 mg/L 时达到最大,相比对照组增加了 13.08%,存在显著性差异 ($P<0.05$),如图 5C 所示。图 5D 结果表明 APX 酶活力随着 Pb 浓度增加呈现先升高后减少再升高的趋势,在 Pb 浓度为 0.50 mg/L 时达到最大,相比对照组增加了 10.59%,存在显著性差异 ($P<0.05$)。Xu 等研究了 *A. bisporus* 对重金属的耐受及富集作用,结果发现在长期或短期的 Pb 胁迫下,菌丝中 SOD、POD 和 CAT 酶活力都出现了明显的上升趋势,菌丝中抗氧化酶系统被激活^[29]。

在 Pb 胁迫下,双孢蘑菇菌丝启动了抗氧化酶保护系统,可以及时清除自由基,使得细胞得以维持正常的生理水平。SOD 主要是通过催化超氧阴离子自由基发生歧化反应,生成 H_2O_2 和 O_2 ,从而消除 O_2 对细胞的损害,生成的 H_2O_2 由 CAT 或 POD 进一步分解为 H_2O 。因此,SOD 的抗氧化作用需要 CAT 或 POD 的参与和协同才能体现。在低浓度 Pb 的胁迫下,细胞内形成的活性自由基较少,SOD 活性被激活,同时也激活了 POD 活性,随着 Pb 浓度的继续增大,氧自由基的浓度增加,SOD 的活性也相应增加,当二者间的平衡被打破后,SOD 活性受到抑制,甚至失活。组织中高浓度的 H_2O_2 主要依靠 CAT 清除,从而使其控制在较低的水平,在一定的胁迫浓度范围内,CAT 酶活性受到活性氧的诱导而提高,发挥抗氧化作用,但当积累到一定量时,超过菌丝体所能承受的胁迫阈值,酶活性下降甚至失去。组织中 APX 是植物 AsA-GSH 氧化还原途径的主要组分,是清除 H_2O_2 的主要酶类,但是从实验结果可得,APX 对 Pb 的敏感程度不及 SOD、

POD 和 CAT^[22]。当 Pb 浓度达到 1.00 mg/L 时, SOD、CAT 和 APX 酶活性降低, 可能与菌丝体中酶合成体系遭到破坏^[25], 酶催化位点或蛋白质结构发生改变有关^[30]。而 POD 活性在 Pb 浓度为 1.00 mg/L 时达到最大, 可能是由于不同的抗氧化酶对铅的响应不同, 说明双孢蘑菇能够通过调节自身抗氧化酶活性对 Pb 胁迫进行防御。

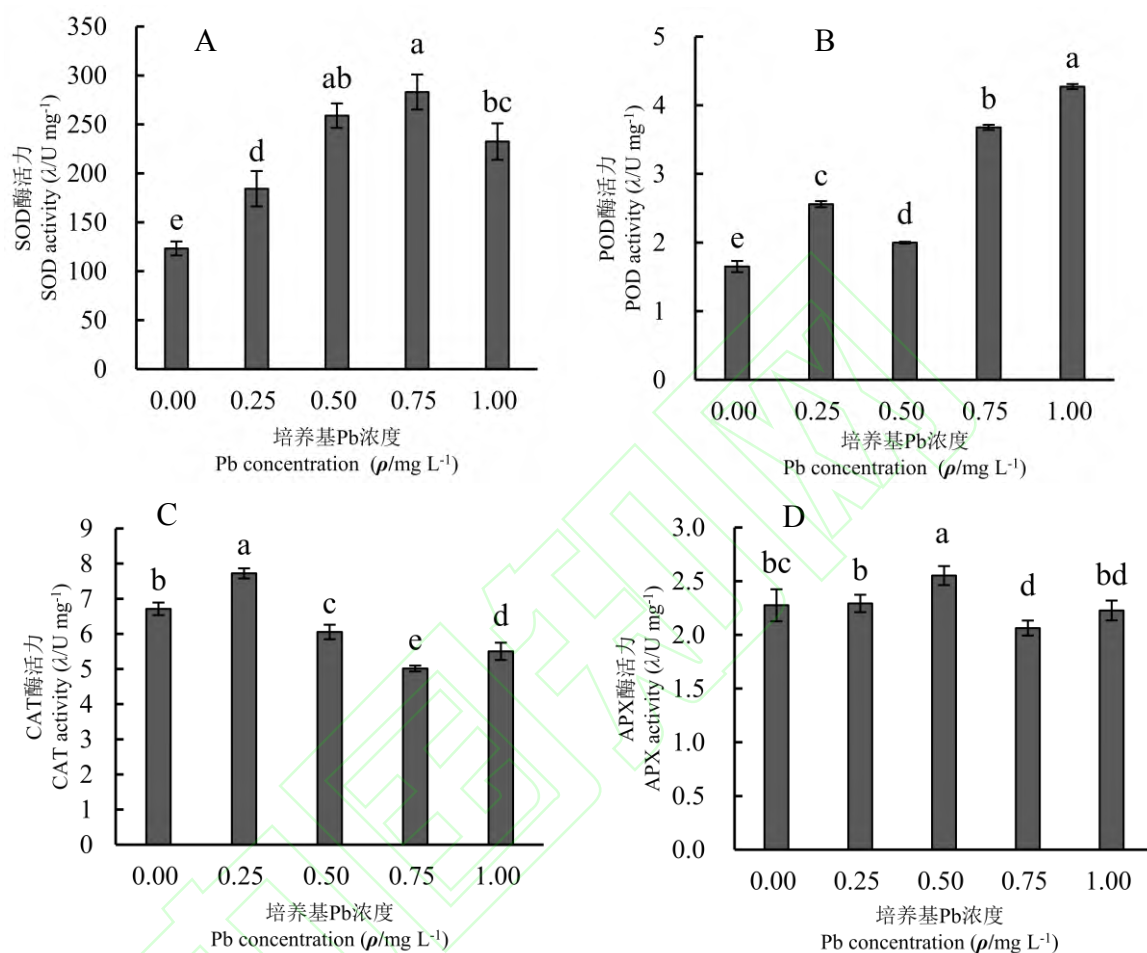


图 5 Pb 胁迫对双孢蘑菇菌丝中 SOD (A)、POD (B)、CAT (C) 和 APX (D) 酶活力的影响。同一项中不同字母表示在 $P < 0.05$ 条件下差异显著。

Fig. 5 The activity of SOD (A), POD (B), CAT (C) and APX (D) of *A. bisporus* under the treatment of Pb. Different letters in the same category indicate significant difference at $P < 0.05$.

3 结论

本实验研究结果发现在培养基中 Pb 浓度为 0~1 mg/L 范围内, 双孢蘑菇的生长不受影响, 生长率无显著性差异, 但细胞膜结构的完整性受到一定的破坏。随着培养基中 Pb 浓度的升高, 菌丝体中 Pb 含量也逐渐升高, 呈现浓度效应。同时在 Pb 胁迫下, 菌丝体中脂质过氧化产物 MDA 含量随着 Pb 浓度的增加呈现增加的趋势, 菌丝体内抗氧化酶被激活, 从而对 Pb 胁迫进行防御。因此双孢蘑菇在 Pb 污染的生物修复中具有应用潜力。但是我们的研究仅限于实验室培养基的方式进行, 双孢蘑菇是否能真正应用在土壤中 Pb 污染的修复还有待进一步研究。

参考文献 [References]

- 1 崔兆庆, 龚玉新, 侯玉霞. 密毛白莲蒿富集铅的分子机制[J]. 中国奶牛, 2015, **5**: 1-4 [Cui ZQ, Gong YX, Hou YX. Molecular mechanism of accumulation of lead by *artemisia sacrorum* ledeb. var. *messer schmidtiana* (Bess.) Y. R. Ling [J]. *China Dai Catt*, 2015, **5**: 1-4]
- 2 Lefevre GH, Asce SM, Paus KH, Natarajan P, Gulliver JS, Asce F, Novak PJ, Hozalski RM. Review of dissolved pollutants in urban storm water and their removal and fate in bioretention Cells [J]. *J Environ Eng*, 2015, **141** (1): 04014050
- 3 宋玉芳, 宋雪英, 张薇, 周启星, 张铁珩. 污染土壤生物修复中存在问题的探讨[J]. 环境科学, 2004, **25** (2): 129-133 [Song YF, Song XY, Zhang W, Zhou QX, Zhang TH. Issues concerned with the bioremediation of contaminated soils [J]. *Environ Sci*, 2004, **25** (2): 129-133]
- 4 黄成涛, 黄位权, 史鼎鼎, 徐少慧, 黄智刚, 蒋代华. 一株耐铅镉真菌 Q7 对香根草吸收累积重金属的效应[J]. 应用与环境生物学报, 2018, **24** (4): 901-907 [Huang CT, Huang WQ, Shi DD, Xu SH, Huang ZG, Jiang DH. Effects of a lead- and cadmium-resistant fungal strain on the absorption of heavy metals by *Vetiveria zizanioides* [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 2018, **24** (4): 901-907]
- 5 Zhu CW, Li ZP, Li DC, Xin Y. Pb tolerance and bioaccumulation by the mycelia of *Flammulina velutipes* in artificial enrichment medium [J]. *J Microbiol*, 2014, **52** (1): 8-12
- 6 García M. Á., Alonso J., Melgar M. J. Lead in edible mushrooms: levels and bioaccumulation factors. *J Hazard Mater*. 2009, **167**: 777-783
- 7 Maihara VA, Moura PLDC, Catharino MGM, Moreira EG, Castro LP, Figueira RCL. Cadmium determination in *Lentinus edodes* mushroom species [J]. *Ciencia E Tecnologia De Alimentos*, 2012, **32** (3): 553-557
- 8 冯欢, 豆青, 王海华, 杨超, 谢清哲, 刘莹, 王春燕. 2 种外生菌根真菌的铅耐受性及相关机制[J]. 西北林学院学报, 2017, **32** (2) : 188-196 [Feng H, Dou Q, Wang HH, Yang C, Xie QZ, Liu Y, Wang CY. Lead tolerance of two ectomycorrhizal fungi and related mechanisms [J]. *J North For Uni*, 2017, **32** (2): 188-196]
- 9 Huang HY, Cheng GL, Chen L, Zhu XQ, Xu H. Lead (II) Removal from aqueous solution by spent *Agaricus bisporus*: determination of optimum process condition using taguchi Method [J]. *Water Air Soil Poll*, 2009, **203** (1-4): 53-63
- 10 Ertugay N, Bayhan YK. The removal of copper (II) ion by using mushroom biomass (*Agaricus bisporus*) and kinetic modelling [J]. *Desalination*, 2010, **255** (1-3): 137-142
- 11 Xu H, Chen YX, Huang HY, Liu YY, Yang ZR. Removal of lead (II) and cadmium (II) from aqueous solutions using spent *Agaricus bisporus* [J]. *Can J Chem Eng*, 2013, **91** (3): 421-431
- 12 Carvalho MA, Marques SC, Martos ET, Rigitano RLO, Dias ES. Bioaccumulation of insecticide in *Agaricus subrufescens* [J]. *Hortic Bras*, 2014, **32** (2): 159-162
- 13 García-Delgado C, Jiménez-Ayuso N, Frutos I, Gárate A, Eymar E. Cadmium and lead bioavailability and their effects on polycyclic aromatic hydrocarbons biodegradation by spent mushroom substrate [J]. *Environ Sci Pollut R*, 2013, **20** (12): 8690-8699
- 14 李艳艳. 双孢蘑菇对重金属铅、镉富集规律的初步研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2011 [Li YY. Preliminary study on the accumulation of heavy metal lead and cadmium in *Agaricus Bisporus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2011]
- 15 许秀兰. 微波消解 ICP-MS 法测定香菇中重金属含量[J]. 中国食用菌, 2012, **31** (6): 30-31 [Xu XL. Determination of heavy metal elements in *Lentinus edodes* by microwave digestion and inductively coupled plasma mass spectrometry [J]. *Edi Fungi China*, 2012, **31** (6): 30-31]
- 16 乔琳, 傅兆麟. Cu、Pb 对上海青幼苗毒害效应及叶片下表皮扫描电镜观察[J]. 中国农学通报, 2010, **26** (12): 70-72 [Qiao L, Fu ZL. Toxic effect of copper or lead to *Brassica chinensis* L. seedling and scanning electron micropic observation on nether epidermis of leaves [J]. *Chi Agri Scie Bull*, 2010, **26** (12): 70-72]
- 17 Ceci A, Maggi O, Pinzari F, Persiani AM. Growth responses to and accumulation of vanadium in agricultural soil fungi [J]. *Appl Soil Ecol*, 2012, **58**: 1-11
- 18 Hu YH, Chen CM, Xu L, Cui Y, Yu XY, Gao HJ, Wang Q, Liu K, Shi Y, Chen QX. Postharvest application of 4-methoxy cinnamic acid for extending the shelf life of mushroom (*Agaricus bisporus*) [J]. *Postharvest Biol Tec*, 2015, **104**: 33-41

- 19 Becana M, Matamoros M, Saiz A, Navascues J, Perez-Rontome C, Wienkoop S, Sainz M, Ramos J. Antioxidants and reactive oxygen/nitrogen species in legume root nodules [J]. *Free Radical Bio Med*, 2012, **53**: S199-S199
- 20 Singh HP, Batish DR, Kohli RK, Arora K. Arsenic-induced root growth inhibition in mung bean (*Phaseolus aureus* Roxb.) is due to oxidative stress resulting from enhanced lipid peroxidation [J]. *Plant Growth Regul*, 2007, **53** (1): 65-73
- 21 Pignocchi C, Kiddle G, Hernandez I, Foster SJ, Asensi A, Taybi T, Barnes J, Foyer CH. Ascorbate oxidase-dependent changes in the redox state of the apoplast modulate gene transcript accumulation leading to modified hormone signaling and orchestration of defense processes in tobacco [J]. *Plant Physiol*, 2006, **141** (2): 423-435
- 22 张亮. 双孢蘑菇生长过程中硒与铅的相互作用[D]. 南京: 南京农业大学, 2012 [Zhang L. Study on the interaction between selenium and lead on the growth of *Agaricus Bisporus* [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2012]
- 23 杨春香. 镉对姬松茸菌丝生长的影响[D]. 福州: 福建师范大学, 2004 [Yang CX. Effect of cadmium on the mycelia growth of *Agaricus blazei* Murill [D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2004]
- 24 黄敏敏, 江枝和, 翁伯琦, 王义祥. 镉对姬松茸菌丝体细胞超微结构的影响[J]. 热带作物学报, 2011, **32** (6): 1082-1085 [Huang MM, Jiang ZH, Weng BQ, Wang YX. The effect of cadmium on mycelial ultrastructure of *Agaricus blazei* Murill [J]. *Chi J Trop Crop*, 2011, **32** (6): 1082-1085]
- 25 朱红霞, 张家洋. 铅胁迫对龟背竹抗氧化酶与脂质过氧化的影响[J]. 农村经济与科技, 2016, **27** (9): 66-67 [Zhu HX, Zhang JY. Effects of lead stress on antioxidant enzymes and lipid peroxidation of bamboo tortoids [J]. *Rural Econo Sci*, 2016, **27** (9): 66-67]
- 26 韩航, 陈雪娇, 陈顺钰, 侯晓龙, 刘爱琴, 蔡丽平. 类芦对铅胁迫的生理响应[J]. 森林与环境学报, 2017, **37** (4): 398-404 [Han H, Chen XJ, Chen SY, Hou XL, Liu AQ, Cai LP. Physiology response of *Neyraudia reynaudiana* under Pb stress [J]. *J For Environ*, 2017, **37** (4): 398-404]
- 27 韩航, 陈顺钰, 薛凌云, 侯晓龙, 蔡丽平, 周垂帆. 铅胁迫对金丝草生长及生理生化的影响[J]. 草业学报, 2018, **27** (4): 131-138 [Han H, Chen SY, Xue LY, Hou XL, Cai LP, Zhou CF. Effects of lead stress on growth and physiology of *Pogonatherum crinitum* [J]. *Acta Pratac Sin*, 2018, **27** (4): 131-138]
- 28 罗弦, 方继宇, 张春梅, 贾永霞, 张世熔, 徐小逊, 李婷, 马缨丹对铅的生理响应及铅在亚细胞中的分布特征[J]. 生态学杂志, 2016, **35** (9): 2442-2448 [Luo X, Fang JY, Zhang CM, Jia YX, Zhang SR, Xu XX, Li T. Physiological response of *Lantana camara* L. under lead stress and subcellular distribution of lead [J]. *Chi J Ecol*, 2016, **35** (9): 2442-2448]
- 29 Xu H, Song P, Gu WB, Yang ZR. Effects of heavy metals on production of thiol compounds and antioxidant enzymes in *Agaricus bisporus* [J]. *Ecotox Environ safe*, 2011, **74**: 1685-1692
- 30 黄亚萍, 俎丽红, 沈广爽, 高张莹, 周美利, 石福臣. 铅胁迫对蜀葵重金属积累及抗氧化酶活性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2017, **36** (9): 1746-1752 [Huang YP, Zu LH, Shen GS, Gao ZY, Zhou ML, Shi FC. Effects of lead stress on accumulation ability and antioxidant enzyme activities of *Althaea rosea* cavan [J]. *J Agro-Environ Sci*, 2017, **36** (9): 1746-1752]